Hormone

ichroma™ LH

USO PRETENDIDO

ichroma™ LH é um imunoensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa do Hormônio Luteinizante (LH) em soro/plasma humano. É útil no auxílio da gestão e monitoramento de problemas de fertilidade, função dos órgãos reprodutivos (ovários ou testículos) ou detecção da ovulação.
Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

O hormônio luteinizante humano (LH, lutropina) é um hormônio glicoproteico com duas subunidades diferentes (α e β). O LH tem um peso molecular de aproximadamente 29,000 daltons. A subunidade α do LH contém 92 resíduos de aminoácidos e é essencialmente idêntica às subunidades β do hormônio folículo estimulante (FSH, folitropina), hormônio estimulante da tireoide (TSH, tirotropina) e gonadotrofina coriônica humana (hCG). A subunidade β do LH contém 112 resíduos de aminoácidos e é consideravelmente diferente do FSH e TSH. No entanto, as subunidades β do LH e hCG são muito semelhantes. As semelhanças estruturais entre LH e hCG são responsáveis pela similaridade observada nas propriedades biológicas. Na mulher, o hLH estimula a maturação final do folículo, ruptura folicular e ovulação. O LH humano é secretado pelas células gonadotróficas da adeno-hipófise em resposta ao hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) do hipotálamo médio-basal. Ambos, hLH e hFSH, são secretados de maneira periódica, no entanto, isso é menos perceptível para o hFSH, talvez devido à sua meia-vida mais longa na circulação. Em um ciclo menstrual normal, o feedback negativo pelo estradiol suprime a secreção de hLH na fase folicular. À medida que o folículo se desenvolve (em resposta à hFSH), aumenta a produção de estradiol, o que desencadeia um aumento no GnRH e uma maior sensibilidade da hipófise ao GnRH. Um aumento de GnRH resulta no aumento pré-ovulatório (meio do ciclo) do hLH e da ovulação. Após este aumento, hLH é suprimido durante a fase lútea devido a feedback negativo de progesterona e estradiol. Variações nos comprimentos do ciclo são observadas em indivíduos do sexo feminino que menstruam normalmente devido a variações no comprimento da fase folicular. Na menopausa feminina, os níveis de hLH são elevados em resposta à diminuição da produção de estrógenos e progestógenos ovarianos, o que elimina o mecanismo de feedback negativo na glândula pituitária. Como resultado, a ovulação e os ciclos menstruais diminuem e eventualmente cessam. No sexo masculino, o hLH é frequentemente referido como hormônio estimulador de células intersticiais e influencia a produção de testosterona pelas células de Leydig nos testículos. Na menopausa ou após a ovariectomia, em mulheres, as concentrações de estrogênios diminuem para níveis baixos. As baixas concentrações de estrogênios resultam na perda do feedback negativo na liberação de gonadotrofina. A consequência é um aumento nas concentrações de LH e FSH. As concentrações de hLH e hFSH são comumente determinadas em investigações do ciclo menstrual, fertilidade e anormalidades do desenvolvimento puberal, como falência ovariana prematura, menopausa, distúrbios ovulatórios e falência pituitária. A proporção de hLH / hFSH tem sido utilizada para auxiliar no diagnóstico da síndrome do ovário policístico. Baixas concentrações de hLH e hFSH podem indicar insuficiência pituitária, enquanto elevadas concentrações de hLH e hFSH, juntamente com a diminuição das concentrações de esteroides gonadais, podem indicar insuficiência gonadal (menopausa, ovariectomia, síndrome do ovário prematuro, síndrome de Turners). As baixas concentrações de gonadotrofina são geralmente observadas em mulheres que tomam contraceptivos orais baseados em esteroides. No sexo masculino, hLH e hFSH elevados com baixas concentrações de esteroides gonadais podem indicar insuficiência testicular ou anorquia. Na síndrome de Klinefelter, hLH pode ser elevado devido a falha nas células de Sertoli.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodetecção do tipo sanduíche.
O anticorpo detector no tampão liga-se ao antígeno na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo que migram pela matriz de nitrocelulose para serem capturados pelo outro anticorpo imobilizado na tira teste.
Quanto maior a quantidade de antígenos na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo são formados, gerando uma intensidade mais forte do sinal de fluorescência no anticorpo detector, que é processado pelo equipamento para testes ichroma™ para apresentar a concentração de LH na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma™ LH** consiste em 'Cassetes', 'Tubos Detectores' e 'Diluente do Detector'.

- O cassete contém uma tira teste, a membrana que apresenta anti-LH humana na linha teste e IgG de coelho na linha controle. Cada cassete é selado individualmente em uma embalagem de folha de alumínio contendo dessecante, e todos os cassetes estão embalados em uma caixa.
- O tubo detector contém um grânulo que é composto por conjugado fluorescente anti-LH, conjugado fluorescente anti-IgG de coelho e azida sódica como conservante em tampão fosfato de potássio (KPI). Todos os tubos detectores estão embalados em uma caixa.
- O diluente do detector contém tween-20 como detergente e azida sódio como conservante em tampão CAPSO, e está previamente dispensado em um frasco. O diluente do detector está embalado em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente para diagnóstico *in vitro.*
- Seguir cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nesta 'Instrução de uso'.
- Usar somente amostras frescas e evitar exposição direta à luz do sol.
- Os números dos lotes de todos os componentes do teste (cassete, tubo detector, diluente do detector e ID chip) devem ser correspondentes.
- Não misturar componentes de diferentes lotes do produto ou usar o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos, resultados incorretos poderão ocorrer.
- Não reutilizar os cassetes ou os tubos detectores. O cassete deve ser utilizado para testar apenas uma amostra. O tubo detector deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- O cassete deve permanecer selado na embalagem original até imediatamente antes do uso. Não usar o cassete caso a embalagem esteja danificada ou aberta.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas somente uma vez. Para transportá-las, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise e hiperlipidemia severas não podem ser utilizadas e devem ser novamente coletadas.
- Caso os componentes do teste e/ou a amostra estejam armazenados em refrigerador, **então mantenha o cassete, o tubo detector, o diluente do detector e a amostra em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes da sua utilização.**
- O instrumento para testes ichroma™ pode gerar vibrações durante o uso.
- Os cassetes, tubos detectores, diluente do detector e pipetas

usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados de uma forma apropriada conforme as normas locais.

- O tubo detector e o diluente do detector contém azida sódica (NaN_3), que pode causar certos problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e da frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e falha respiratória. Evite contato com a pele, olhos e roupas. Em caso de contato, limpe a área imediatamente com água corrente.
- O kit **ichroma™ LH** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeito às seguintes condições:
  - O kit **ichroma™ LH** deve ser usado somente em conjunto com os equipamentos para testes ichroma™.
  - Deve ser utilizado com os anticoagulantes recomendados.

Anticoagulante recomendados
K_2 EDTA, K_3 EDTA, Heparina Sódica

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado falso-positivo devido à reação cruzada e/ou adesão não-específica de certos componentes da amostra aos anticorpos detectores/captura.
- O teste pode apresentar resultado falso-negativo. A não-responsividade do antígeno aos anticorpos é mais comum onde o epítopo é mascarado por algum componente desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com o tempo e/ou temperatura pode levar ao resultado falso-negativo, uma vez que se torna irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e levar a resultados errôneos, tais como erros de procedimento/técnico, degradação dos componentes do teste/reagentes ou presença de substâncias interferentes nas amostras-teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser suportado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condição de Armazenagem			
Componente	Temperatura	Validade	Nota
Cassete	2 - 30°C	20 meses	Uso único
Tubo Detector	2 - 30°C	20 meses	Uso único
Diluente do Detector	2 - 30°C	20 meses	Fechado
		3 meses	Aberto

- Após a abertura da embalagem do cassete, o teste deve ser realizado imediatamente.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ LH:**

- Caixa do Cassete:

- Cassetes	25
- Tubo Detector	25
- Diluente do Detector	1
- ID Chip	1
- Instrução de uso	1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma™ LH.**

- Equipamento para testes **ichroma™**:
  - **ichroma™ Reader**
  - **ichroma™ II**
  - **ichroma™ III**
- **Impressora**
- **Boditech Hormone Control**

Por favor, contate a **BIOSYS LTDA.** para maiores informações.

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os tipos de amostras utilizados com o kit **ichroma™ LH** são soro/plasma humano.

- É recomendado testar as amostras dentro de 24 horas após a coleta, caso as amostras sejam armazenadas a temperatura ambiente.
- As amostras (soro, plasma) devem ser separadas por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.
- As amostras (soro, plasma) podem ser armazenadas por até uma semana entre 2-8°C antes de serem testadas. Se o teste não puder ser realizado dentro de uma semana, as amostras (soro, plasma) devem ser congeladas a -20°C.
- As amostras (soro, plasma) congeladas a -20°C por 3 meses não apresentam diferença de desempenho.
- Como ciclos repetidos de congelamento e descongelamento podem afetar o resultado do teste, não congele novamente amostras previamente congeladas..

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ LH**: cassetes selados, tubos detectores, um diluente do detector, um ID Chip e uma instrução de uso.
- Certifique-se que o número do lote dos cassetes equivale ao do tubo detector, do diluente do detector, assim como ao do ID Chip.
- Mantenha o cassete selado, o tubo detector e o diluente do detector (se armazenados na geladeira) **à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste**. Coloque o cassete sobre uma superfície limpa, isenta de poeira e plana.
- Ligue o equipamento para testes ichroma™.
- Insira o ID Chip na porta do chip de identificação do equipamento.

※ **Favor consultar o Manual de Operações do equipamento para testes ichroma™ para obter informação completa e instruções de operação.**

PROCEDIMENTO DO TESTE

▶ ichroma™ Reader, ichroma™ II

Modo Multi Teste

1) Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/plasma) na tela.
※ Caso esteja utilizando um controle como amostra, selecione 'soro/plasma'.
2) Pegue **150 µL** do diluente do detector, utilizando uma pipeta, e dispense-o no tubo detector que contém o grânulo. Quando o grânulo estiver completamente dissolvido no tubo, o tampão de detecção estará pronto.
(O tampão de detecção deve ser utilizado imediatamente. Não exceder 30 segundos para a sua utilização).
3) Pegue **150 µL** da amostra (soro/plasma/controle) utilizando uma pipeta e dispense-a dentro do tubo detector.
4) Feche a tampa do tubo detector e misture a amostra completamente agitando o tubo cerca de 10 vezes.
(A mistura da amostra deve ser utilizada imediatamente. Não exceder 30 segundos para a sua utilização).
5) Pegue **75 µL** da mistura da amostra e dispense-a no poço de amostra do cassete.
6) Mantenha o cassete com a amostra carregada em temperatura ambiente por 15 minutos.

⚠ *Faça a leitura do cassete imediatamente após o fim do tempo de incubação. Caso contrário, isso causará um resultado inexato.*

7) Para realizar a leitura, insira o cassete no suporte para cassetes do instrumento para testes ichroma™. Verifique a posição adequada do cassete antes de inseri-lo no suporte. Uma seta foi marcada no cassete especialmente para este propósito.
8) Pressione 'Select' ou aperte o botão 'Start' no instrumento para testes ichroma™ para iniciar o processo de leitura.
9) O instrumento para testes ichroma™ iniciará a leitura dos cartuchos carregados com amostra imediatamente.
10) Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes ichroma™.

Modo Teste Único

1) O procedimento de teste é o mesmo que o do 'Modo Multi Teste' do item 1) ao item 5).
2) Insira o cassete carregado com a amostra no suporte para cassetes do equipamento para testes ichroma™. Verifique a posição adequada do cassete antes de inseri-lo no suporte. Uma seta foi marcada no cassete especialmente para este propósito.
3) Pressione 'Select' ou aperte o botão 'Start' no instrumento para testes ichroma™.
4) O cassete será conduzido para o interior do instrumento para testes ichroma™ e a leitura do cassete carregado com a amostra ocorrerá automaticamente após 15 minutos.
5) Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes ichroma™.

▶ ichroma™ III

1) O procedimento é o mesmo que para o 'Modo Teste Único'.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes ichroma™ calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de **LH** na amostra testado em **mIU/mL**.
- Valor de referência:

Tipo		mIU/mL
Homens		1,24 – 8,62
Mulheres	Fase folicular	2,12 – 10,89
	Fase ovulatória	19,18 – 103,03
	Fase lútea	1,20 – 12,86
	Pós menopausa	10,87 – 58,64

- Faixa de medição: 1,0 – 100,00 mIU/mL

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de controle deverão ser realizados imediatamente antes da utilização de um novo lote do teste para garantir que o desempenho do teste não foi alterado.
- Os controles não são fornecidos com o kit **ichroma™ LH.** Para mais informações sobre a obtenção dos controles, entre em contato com a BioSys Ltda.
  (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- **Sensibilidade Analítica**
  - Limite do Branco (LoB) 0,292 mIU/mL
  - Limite de Detecção (LoD) 0,526 mIU/mL
  - Limite de Quantificação (LoQ) 1 mIU/mL
- **Especificidade Analítica**
  - Reatividade Cruzada
    As biomoléculas listadas na tabela abaixo foram adicionadas à amostra teste em concentrações muito maiores do que os níveis fisiológicos normais do sangue. Os resultados dos testes realizados com o **ichroma™ LH** não mostraram nenhuma reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Biomolécula	Concentração
FSH	2.000 mIU/mL
hCG	500.000 mIU/mL
PRL	2.000 ng/mL
TSH	2.000 µIU/mL

  - Interferência
    Os materiais interferentes listados na tabela abaixo foram adicionados à amostra teste nas concentrações especificadas. Os resultados dos testes realizados com o **ichroma™ LH** não mostraram nenhuma interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentração
D-glicose	1.000 mg/dL
Albumina (Proteína)	60 g/L
Ácido L-Ascórbico	300 µmol/L
Bilirrubina (não conjugada)	684 µmol/L
Hemoglobina (humana)	200 g/L
Triglicerídeos	2.500 mg/mL
Paracetamol	1.030 µmol/L
Ibuprofeno	1.060 µmol/L
Ácido Acetilsalicílico	167 µmol/L
Cafeína	556 µmol/L
Heparina	330 unidades/dL
EDTA	3,39 µmol/L

- **Precisão**
  - Estudo Unicêntrico
    Repetibilidade (precisão na corrida)
    Precisão total (precisão no laboratório)
    Precisão lote a lote
    3 lotes do **ichroma™ LH** foram testados durante 20 dias. Cada material foi testado 2 vezes por dia, e em cada teste, cada material padrão foi testado em duplicata.

Estudo Unicêntrico						
LH [mIU/mL]	Repetibilidade		Precisão no Laboratório		Precisão Lote a Lote	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
5	5,00	5,0	5,01	5,5	5,02	5,4
10	10,02	5,7	9,99	6,1	9,96	6,0
50	50,08	5,6	50,09	5,4	50,14	5,9

  - Estudo Multicêntrico
    Reprodutibilidade
    1 lote do **ichroma™ LH** foi testado durante 5 dias em 3 locais diferentes (1 pessoa por local, 1 equipamento por local). Cada material padrão foi testado 1 vez em 5 replicatas por dia.

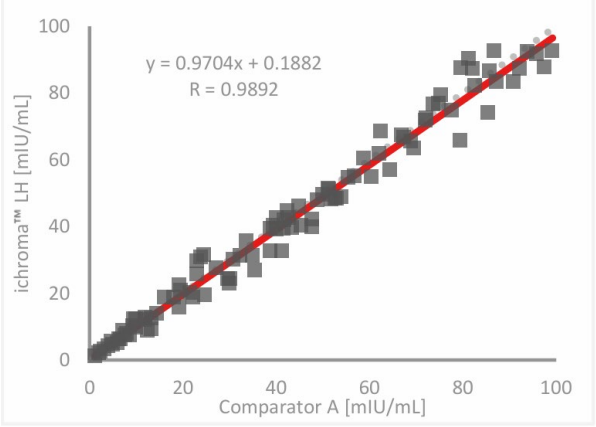
Estudo Multicêntrico		
LH [mIU/mL]	Reprodutibilidade	
	Média	CV (%)
5	5,02	5,7
10	10,07	5,4
50	49,31	6,1

- **Exatidão**
  A exatidão foi confirmada testando 3 lotes do **ichroma™ LH**. Os testes foram repetidos 10 vezes em cada concentração do material controle.

LH [mIU/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	Recuperação
1	1,05	1,06	1,06	1,06	105,5%
2	2,02	1,94	1,98	1,98	99,1%
3	2,98	2,92	3,06	2,99	99,5%
4	4,01	3,93	4,13	4,03	100,6%
5	5,01	4,92	5,07	5,00	100,0%
10	9,77	10,23	9,95	9,98	99,8%
20	19,83	20,28	19,43	19,84	99,2%

50	51,10	52,65	49,59	51,11	102,2%
100	96,60	97,00	94,26	95,96	96,0%

- **Comparabilidade**
  A concentração de LH foi medida em 100 amostras clínicas que foram quantificadas independentemente com o **ichroma™ LH (ichroma™ II)** e com um **Comparador A** de acordo com os procedimentos de teste prescritos. Os resultados dos testes foram comparados e sua comparabilidade foi investigada com regressão linear e coeficiente de correlação (R). A equação de regressão e o coeficiente de correlação estão apresentados a seguir.
  * Linha contínua: linha de regressão do ichroma™ LH
  * Linha tracejada: y=x



GARANTIA

Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do teste não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

1. Pierce JG, Parsons TF. Glycoprotein Hormones: Structure and Function. Annu Rev Biochem 1981; 50:465-95.
2. Shome B, Parlow AF. Human Follicle Stimulating Hormone (hFSH): First Proposal For the Amino Acid Sequence of the α-Subunit and First Demonstration of its Identity with the α-Subunit of Human Luteinizing Hormone (hLHα) J Clin Endocrinol Metab 1974; 39:199-202.
3. Sairam MR, Li CH. Human Pituitary Thyrotropin: Isolation and Chemical Characterization of its Subunits. Biochem Biophys Res Commun 1973; 51:336-42.
4. Vaitukaitis JL, Ross GT, Braunstein GD, et al. Gonadotropins and Their Subunits: Basic and Clinical Studies. Recent Prog Horm Res 1976; 32:289-331.
5. Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle-Stimulating Hormones. In: Parsons JA, editor. Peptide Hormones. Baltimore: University Park Press, 1976:273-98.
6. Keutmann HT, Williams RM, Ryan RJ. Structure of Human Luteinizing Hormone Beta Subunit: Evidence for a Related Carboxyl-Terminal Sequence Among Certain Peptide Hormones. Biochem Biophys Res Commun 1979; 90:842-8.
7. South SA, Yankov VI, Evans WS. Normal reproductive neuroendocrinology in the female. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993; Edited by Veldhuis JD, Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co. 22: 1-28.
8. Adashi EY. The ovarian life cycle. In Reproductive Endocrinology. Edited by Yen, S.S.C., Jaffe, R.B., Philadelphia, W.B. Saunders Co. 1991; 181-237.
9. Yen SSC. The human menstrual cycle: neuroendocrine regulation. In Reproductive Endocrinology 1991; Edited by Yen, S.S.C., Jaffe, RB, Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., 273-308.
10. Richardson SJ. The biological basis of menopause. Baillières Clinical Endocrinology and Metabolism 1993; 7:1-16.
11. Reyes-Fuentes A, Veldhuis JD. Neuroendocrine physiology of the normal male gonadal axis. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993; Edited by Veldhuis, JD. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., 22: 93-124.
12. Ross GT. Disorders of the Ovary and Female Reproductive Tract. In: Wilson JD and Foster DW, editors. Williams Textbook of Endocrinology. Philadelphia: Saunders, 1985:206-58.
13. Beastall GH, et al. Assays for Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone: Guidelines for the Provision of a Clinical Biochemistry Service. Ann Clin Biochem 1987; 24:246-62.
14. Judd HL. Hormonal Dynamics Associated with the Menopause. Clin Obstet Gynecol 1976; 19:775-88.
15. Carr BR, Disorders of the ovary and female reproductive tract. In Williams Textbook of Endocrinology 8th edition 1992; Edited by Wilson JD and Foster DW, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co., 733-798.
16. Hall JE. Polycystic ovarian disease as a neuroendocrine disorder of the female reproductive axis. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993; Edited by Veldhuis JD, Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co. 22 (1): 75-92.
17. Bonnar J. The hypothalmus and reproductive function. In The Medical Annual 1973; Edited by Scott RB and Walker RM, Bristol, England, J. Wright and Sons, 251-258.
18. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 1994. Second edition. Edited by Burtis CA and Ashwood ER, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co. 1846-1850.
19. National Institutes of Health. Historical reference range of Luteinizing Hormone. http://cclnprod.cc.nih.gov/dlm/testguide.nsf/Index/A166B3FAC B4F69C285256BA4006B37ED?OpenDocument.

Observação: Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos:

	Suficiente para <*n*> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
LOT	Código de Lote
REF	Número de Catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Representante autorizado da Comunidade Europeia
IVD	Dispositivo para uso diagnóstico *in vitro*
	Limites de temperatura
	Não reutilizar
CE	Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro*

Boditech Med Inc.
43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si,
Gang-won-do, 24398, Republic of Korea
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

Fabricante: Boditech Med Inc.
Regularizado por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ
Cep: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
Anvisa: 10350840321
SAC: sac@biosys.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414
www.biosys.com.br

CE IVD